

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

21 Numéro de dépôt: 89401533.8

22 Date de dépôt: 02.06.89

51 Int. Cl.⁴: **C 07 D 487/22**
A 61 K 31/40
 //(C07D487/22,257:00,209:00,
 209:00,209:00,209:00)

30 Priorité: 02.06.88 FR 8807372

43 Date de publication de la demande:
 06.12.89 Bulletin 89/49

84 Etats contractants désignés:
 AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE

71 Demandeur: **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
 SCIENTIFIQUE**
 15, quai Anatole France
 F-75007 Paris (FR)

72 Inventeur: **Meunier, Bernard**
 Résidence Les Ormes - Bâtiment C3
 F-31320 Castanet (FR)

Etemad-Moghadam, Guita
 18, rue de Nîmes - Hall 4
 F-31400 Toulouse (FR)

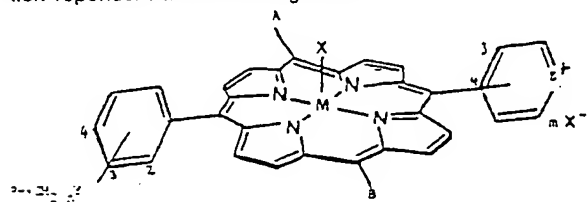
Ding, Li
 Appartement 99 - 30 Chemin des Maraichers
 F-31100 Toulouse (FR)

Cros, Suzy
 7, rue du Coustet
 F-31520 Ramonville St Agne (FR)

74 Mandataire: **Varady, Peter et al**
 Cabinet Lavoix 2, Place d'Estienne d'Orves
 F-75441 Paris Cedex 09 (FR)

54 Dérivés de métalloporphyrines, leur préparation, leur application en thérapeutique et leur utilisation pour la préparation de molécules hybrides.

57 Les nouveaux dérivés de métalloporphyrines selon l'invention répondent à la formule générale



dans laquelle A et B représentent chacun

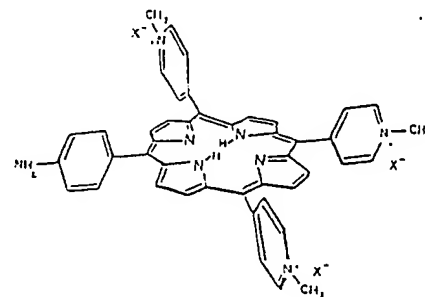


et Z⁺ représente N⁺-R₁ ou C⁺-N⁺R₁R₂R₃, R₁ étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, et R₂ et R₃ étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀,

R représente un groupe NH₂, OH, COOH ou -N(R₁)₃ ou un atome d'halogène, n est 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié, M

représente un métal de transition, X⁻ représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable m étant un entier de 1 à 5 et Y représente une liaison ou un radical -O-, -CO- ou -CO-NH-.

Médicaments, notamment antitumoraux et antiviraux.



Description

Dérivés de métalloporphyrines, leur préparation, leur application en thérapeutique et leur utilisation pour la préparation de molécules hybrides

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de métalloporphyrines, leur préparation, leur application en thérapeutique, et leur utilisation pour la préparation de molécules hybrides à usage thérapeutique.

L'utilisation de certains dérivés hématoportyriniques dans le traitement des cancers par photothérapie a été décrite par exemple par J. Moan (Photobiol. Photochem. 43, 681 (1986)). Ces molécules présentent la particularité de s'accumuler au niveau des tumeurs, ce qui permet de les utiliser comme marqueurs biologiques ou agents thérapeutiques. Toutefois, la préparation de ces dérivés conduit souvent à un mélange de produits pas toujours bien définis et de composition variable. Cet état de fait justifie le développement de dérivés porphyriniques obtenus par synthèse totale et pouvant se substituer aux hématoportyrines dans le traitement de cancers par photothérapie.

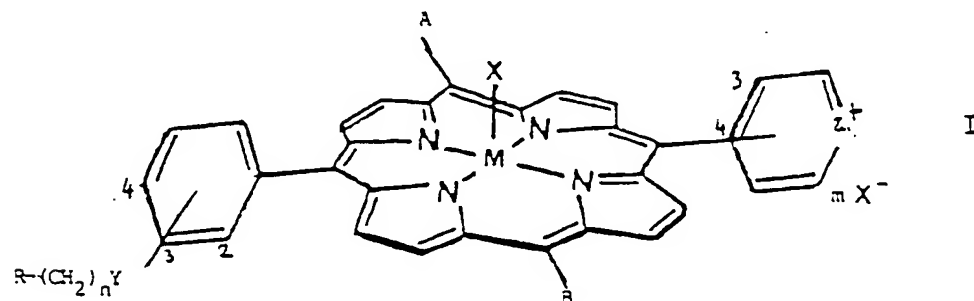
Par ailleurs, des travaux récents ont montré que des dérivés métallés de porphyrines synthétiques sont capables de couper les acides nucléiques (ADN) *in vitro* selon un processus d'oxydation (EP-A-118 913; E. Fouquet, G. Pratiel, J. Bernadou et B. Meunier, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1169 (1987)). Cette activité nucléase de métalloporphyrines hydrosolubles est d'autant plus intéressante qu'elle est observable pour des concentrations très faibles de réactifs (de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-8} M), inférieures à celles de la bléomycine (un antibiotique antitumoral possédant une forte activité nucléase en présence d'ions ferriques, d'oxygène moléculaire et de réducteurs). Les nombreuses études menées ces dernières années sur la pharmacologie moléculaire de ce médicament majeur de la chimiothérapie anticancéreuse indiquent que son activité cytotoxique et antitumorale peut être due à sa capacité à dégrader l'ADN de cellules tumorales.

Selon la présente invention on a effectué la synthèse de métalloporphyrines (dont la sphère de coordination autour d'ions fer ou manganèse modélise l'arrangement des ligands peptidiques de la bléomycine) ayant les deux propriétés suivantes :

- activité nucléase sur l'ADN *in vitro*, et
- activité cytotoxique sur cellules entières,

qui, à la connaissance des inventeurs, n'ont pas encore été décrites pour des métalloporphyrines. L'invention concerne donc de nouveaux dérivés porphyriniques possédant cette double propriété. Par ailleurs, on montre également que cette double propriété est conservée dans des molécules hybrides lorsque le squelette porphyrinique est relié à une entité possédant une affinité pour les acides nucléiques et capable aussi de moduler l'activité biologique de ces métalloporphyrines cytotoxiques (polyamines, polylysine, oligonucléotides...).

Les nouveaux dérivés de métalloporphyrines selon l'invention répondent à la formule générale



dans laquelle A et B représentent chacun



Z⁺ représente N⁺-R₁ ou C-N⁺R₁R₂R₃; R₁ étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, et R₂ et R₃ étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, R représente un groupe NH₂, OH, COOH ou -N(R₁)₃, ou un atome d'halogène, n est 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié, M représente un métal de transition, X⁻ représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable, m étant un entier de 1 à 5, et Y représente une liaison, ou un radical -O-, -CO- ou -CONH-.

De préférence, R₁ représente un groupe alkyle, en particulier méthyle ou éthyle, et R₂ et R₃ représentent

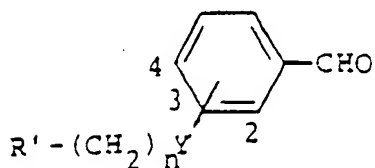
chacun un atome d'hydrogène ou méthyle, M représente notamment Cr, e, Co, Ni, Cu, Zn ou Ru, de préférence Mn ou Fe.

X- est choisi notamment parmi les anions des acides carboxyliques solubles couramment utilisés en pharmacie, en particulier : acétate, propionate, butyrate, ascorbate, benzoate, cinnamate, citrate, fumarate, glycolate, malonate, tartrate, malate, maléate et mandélate.

De préférence encore Z⁺ représente le groupe N⁺-R₁.

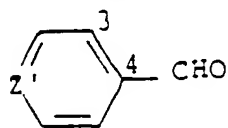
Les composés de formule I peuvent être préparés par

(a) condensation d'un phényl-carboxaldéhyde de formule



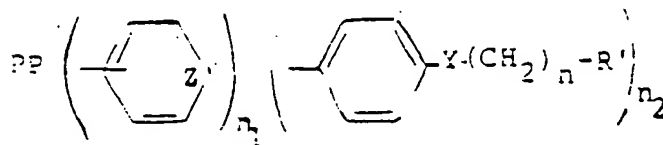
I I

dans laquelle n et Y ont la même signification que dans la formule I et R' est le groupe R éventuellement protégé de la formule I, et d'un aldéhyde de formule



I I I

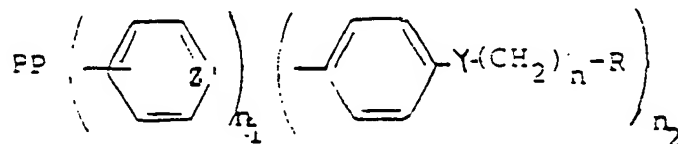
dans laquelle Z' représente N ou $\geq C-NR_2R_3$, R₂ et R₃ ont la même signification que dans la formule I, avec le pyrrole en milieu acide, de façon à obtenir une porphyrine (PP) tétrasubstituée en positions 5,10, 15,20 de formule générale



I V

dans laquelle R', n Y et Z' ont les mêmes significations que dans les formules II et III respectivement, et n₁ et n₂ sont des entiers de 1 à 3, avec n₁ + n₂ = 4,

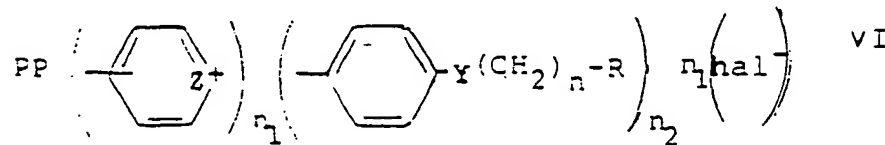
b) le cas échéant le composé IV est soumis à une déprotection du radical R' pour obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5,10,15,20 de formule générale



V

dans laquelle Z' a la même signification que dans la formule III, PP, n₁ et n₂ sont comme dans la formule IV et n, R, et Y ont la même signification que dans la formule I,

c) le composé de formule V, après protection éventuelle de la fonction R, est soumis à une réaction d'alkylation à l'aide d'un halogénure R₁-hal, R₁ ayant la même signification que dans la formule I et hal désignant le brome ou d'iode, de manière à obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5,10,15,10 de formule générale



VI

et

d) ce composé est métallé à l'aide d'un sel MX_p, M et X ayant la même signification que dans la formule I et p correspondant à la valence du métal M.

L'étape a) est effectuée en milieu acide, notamment acide propionique au reflux, en présence d'anhydride acétique.

Selon la signification du radical R, une protection peut être nécessaire. Si R = NH₂, on choisira R' = NO₂ et alors l'étape b) consistera à réduire NO₂ en NH₂, notamment par le chlorure stanneux en milieu acide fort. Si R = COOH, on choisira pour R' un ester d'alkyle correspondant et l'étape b) consistera à hydrolyser cet ester.

L'étape c) d'alkylation est effectuée de manière classique, dans un solvant polaire neutre tel que le

diméthylformamide (DMF) au reflux.

L'étape d) de métallation, peut aussi être effectuée dans le DMF au reflux, notamment en présence de 2,4,6-collidine.

Selon une variante, les étapes c) et d) peuvent être inversées.

- 5 L'invention concerne aussi l'utilisation des composés (I) pour la préparation de molécules hybrides à usage thérapeutique, comprenant, par exemple une métalloporphyrine (I) reliée à un intercalant tel que la 9-méthoxy-ellipticine, ce qui permet de disposer de molécules ayant l'activité biologique de chacun des deux composants.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

- 10 Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été obtenus sur un appareil Bruker 250 WM FT. Les spectres de masse ont été obtenus soit sur un appareil Ribermag R1010 pour les spectres en DCI (NH_3), Varian Mat 311A en désorption de champ ou ZAB pour les spectres en FAB et les spectres UV-visible sur un appareil Varian-Cary 2300. EXEMPLE 1 : Pentaacétate de 5-(4-aminophényl)-10,15, 20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III) et dérivés apparentés.

- 15 a) 5-(4-nitro-phényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

- Un mélange de 3 g (0,020 mole, 1,75 eq.) de nitro-4-phényl carboxaldéhyde dans 158 ml d'acide propionique et 8 ml d'anhydride acétique est chauffé à 110°C sous agitation. A cette solution, on ajoute lentement 3,2 ml (0,034 mole, 3 eq.) de pyridine-4-carboxaldéhyde puis 3,1 ml (0,045 mole, 4 eq.) de pyrrole et on porte le
20 mélange au reflux pendant 1 h 30. Revenu à la température ambiante, le mélange est évaporé à sec neutralisé avec une solution aqueuse d'ammoniaque. Après filtration, le précipité est lavé plusieurs fois avec du dichlorométhane. La phase organique est ensuite concentrée puis purifiée sur une colonne de silice sèche (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane/éthanol : 95/5). Produit isolé = 0,526 g ; Rdt = 7,1 %.

- CCM : Rf = 0,51 (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 95/5).

- 25 UV-visible (CHCl_3) λ (ε) : 640 ($1,1 \times 10^3$) ; 586 ($2,0 \times 10^3$) ; 546 ($2,8 \times 10^3$) ; 512 ($6,7 \times 10^3$) ; 418 ($1,6 \times 10^5$) (bande de Soret).

- RMN ^1H (CDCl_3) : δ : 9,06 (d, 6H, J = 5,9 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,87 (m, 6H, β-pyrrole) ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β-pyrrole) ; 8,66 (d, 2H, J = 8,60 Hz, protons 2,6-nitro-4-phényl) ; 8,38 (d, 2H, J = 8,60 Hz, protons 3,5-nitro-4-phényl) ; 8,15 (d, 6H, J = 5,9 Hz protons 3,5-pyridine) ; -2,89 (s, 2H, NH pyrrole).

- 30 Analyse : (dans les calculs, on a considéré qu'il y avait une molécule d'eau de solvation),
 $\text{C}_{41}\text{H}_{26}\text{N}_8\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

- | | C | H | N |
|--------------|-------|------|-------|
| 35 Calculé % | 72,34 | 4,15 | 16,46 |
| Trouvé % | 72,87 | 4,06 | 16,93 |

- 40 b) 5-(4-amino-phényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

- A 0,252 g (0,38 mmole) de la porphyrine (a) dans 18 ml d'acide chlorhydrique 6N, on ajoute 0,672 g (3 mmole, 8 eq.) de chlorure stanneux dihydraté et on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 15 h. Le mélange est ensuite neutralisé avec de la soude 1 N puis extrait au dichlorométhane. La
45 phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé à sec. Le résidu repris dans du dichlorométhane est précipité par l'addition de l'hexane ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexane}$: 1/10) puis filtré et séché sous vide.

Produit isolé = 0,21 g ; Rdt = 87 %.

CCM : Rf = 0,23 (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 95/5)

- 50 UV-visible (CHCl_3) λ (ε) : 652 ($3,0 \times 10^3$) ; 590 ($3,2 \times 10^3$) ; 554 ($4,5 \times 10^3$) ; 516 ($7,8 \times 10^3$) ; 420 ($8,8 \times 10^4$) (bande de Soret).

Masse (DCI) : $\text{M}^+ = 633$ et (FD) : $\text{M}^+ - \text{H} = 632$

- RMN ^1H (DMSO-d_6 à 303 K) δ : 9,15 (d, 6H, J = 5,50 Hz, p-2,6 pyridine) ; 8,98 (m, 8H, β-pyrrole) ; 8,36 (d, 6H, J = 5,50 Hz, p-3,5-pyridine) ; 7,99 (d, 2H, J = 8,20 Hz, p-2,6-amino-4-phényl) ; 7,14 (d, 2H, J = 8,20 Hz, p-3,5-amino-4-phényl) ; 5,87 (s, 2H, NH_2) ; -2,80 (s, 2H, NH pyrrole).

- c) 5-(4-benzoyl-amino-phényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

- 0,010 ml (0,086 mmole, 1,8 eq.) de chlorure de benzoyle est ajouté goutte à goutte à une solution de 0,030 g (0,047 mmole) de la porphyrine (b) dans 3 ml de pyridine anhydre maintenue dans un bain de glace. Le
60 mélange est agité pendant 1 h à 0°C. Au bout de ce temps, le solvant est évaporé à sec et le résidu est repris dans du dichlorométhane. Cette solution est lavée à l'eau distillée, avec de la soude à 5% puis à l'eau distillée. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis évaporée à sec. Le résidu est séché sous vide.

Produit isolé = 0,025 g ; Rdt = 71 %.

- 65 RMN ^1H (DMSO-d_6 à 297 K) δ : 10,72 (s, 1H, NH) ; 8,96 (d, 6H, J = 5,3 Hz, protons 2,6 pyridine) ; 8,93 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β-pyrrole) ; 8,83 (s, 4H, β-pyrrole) ; 8,82 (d, 2H, J = 4,7 Hz, β-pyrrole) ; 8,22 (m, 10H, protons 3,5

pyridine et phényl); 8,0 (d, 2H, J = 8,0 Hz, protons 2,6 amino-4-phé
amino-4-phényl et phényl para) ; -2,85 (s, 2H, NH pyrrole).

d) Pentaacétate de 5-(4-amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse(III).

A 0,030 g (0,05 mmole de porphyrine (c) dans 3 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6 collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) de sel de manganèse, de fer, de zinc ou de nickel. Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau puis, purifié sur une colonne sèche d'alumine neutre (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane / éthanol). A la métalloporphyrine ainsi obtenue dans 3 ml de DMF, on ajoute l'iodure de méthyle (10 eq.) et le mélange est agité à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange est ensuite évaporé à sec. La déprotection du groupement amine se fait par addition d'une solution d'ammoniaque 9 M. Le mélange est alors agité à 70°C pendant 3h puis 15h à température ambiante. Au bout de ce temps, le mélange est évaporé à sec puis traité à l'acide chlorhydrique 6M, évaporé à sec et repris dans du méthanol.

L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par trituration avec de l'éther.

Sa formule développée (M = Mn, X = CH₃COO) est représentée sur la figure annexée On a obtenu de la même manière le dérivé de fer, de zinc et de nickel correspondant en remplaçant l'acétate de manganèse (Mn(CH₃COO)₂·4H₂O) respectivement par FeCl₂·4H₂O; Zn(CH₃COO)₂·2H₂O ou NiCl₂·6H₂O (10 eq. chaque fois). Rendements de 60 à 70%.

Dérivé du manganèse: UV-visible (H₂O à 7,73 x 10⁻⁶ M) λ (ε) 596 (3,9 x 10³); 554 (8,6 x 10³); 464 (7,5 x 10³).

Dérivé du zinc: UV-visible (H₂O à 23,9 x 10⁻⁶ M) λ (ε) 606 (2,5 x 10³) 562 (5,0 x 10³) 432 (5,8 x 10⁴).

Dérivé du nickel: UV-visible (H₂O à 14,3 x 10⁻⁶ M) λ (ε) 568 (4,9 x 10³) 530 (1,0 x 10⁴) 417 (1,1 x 10⁵).

e) Variante de préparation du triacétate de 5-(4-amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine par méthylation de la porphyrine (a) suivie d'une réduction de la fonction nitro.

A 0,016 g (0,024 mmole) de porphyrine (a) dans 20 ml de DMF, on ajoute un large excès d'iodure de méthyle (1 ml). Le mélange est agité à 40° C pendant 2 h puis le solvant est évaporé à sec. Le résidu est repris dans 3 ml d'acide chlorhydrique 6N. Après addition du chlorure stanneux dihydraté, l'agitation est maintenue à température ambiante pendant 15 h. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Le résidu est repris dans du méthanol.

L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78, sous forme acétate (4 eq.) à cette solution, suivie d'une agitation de 3 h à la température ambiante, permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate correspondant. Le résidu est repris dans de l'eau et après un passage sur une colonne LH20, la porphyrine est purifiée.

Rdt = 83%.

RMN ¹H (CD₃COOD) δ 9,51 (m, 6H, protons 2,6 pyridine); 9,04 (m large, 14H, β-pyrrole et protons 3,5 pyridine); 8,35 (m, 2H, protons 2,6 amino-4-phényl); 7,80 (m, 2H, protons 3,5 amino-4-phényl); 4,92 (m, 9H, N-méthyl-4-pyridyl).

f) Iodure de 5-(4-triméthyl-amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl) porphyrine

A 0,014 g (0,02 mmole) de porphyrine (b) dans 4 ml de DMF, on ajoute goutte à goutte 0,014 ml (0,2 mmole, 10 eq.) d'iodure de méthyle et on porte le mélange au reflux pendant 3 heures. La solution est ensuite agitée à la température ambiante pendant 15 heures puis le solvant est évaporé à sec. Le résidu est trituré avec du dichlorométhane, du méthanol puis de l'acétone. Après filtration, le produit est séché sous vide. Produit isolé = 0,019 g; Rdt = 83%.

UV-visible (MeOH/AcOH) : 99/1 λ (ε) : 655 (1,3 x 10³); 590 (4 x 10³); 560 (4 x 10³); 515 (1,3 x 10⁴); 421 (7,0 x 10⁴) (bande de Soret).

Masse (FD) : m/e = 660

RMN ¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 9,60 (d, 6H, J = 5,9 Hz, p-2,6-pyridine); 9,27 (m, 8H, β-pyrrole); 9,13 (d, 6H, J = 5,9 Hz, p-3,5-pyridine); 8,18 (d, 2H, J = 8,6 Hz, p-2,6-amino-4-phényl); 7,34 (d, 2H, J = 8,6 Hz, p-3,5-amino-4-phényl); 4,86 (s large, 9H, N-méthyl-4-pyridyl), 3,46 (s large, 9H, N(CH₃)₃); -2,73 (s, NH pyrrole).

g) Pentaacétate de 5-(4-triméthyl-amino-phényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III)

A 0,053 g (0,05 mmole) de iodure de porphyrine (c) dans 4 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6-collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) d'acétate de manganèse, Mn (CH₃COO)₂·4H₂O. Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau puis repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par précipitation dans un mélange méthanol/acétone. Rdt = 80%. P.F. supérieure à 240°C.

La formule développée de ce composé est représentée à la dernière page de la description.

h) Variante de préparation par inversion des étapes f) et g) précédentes.

- A 0,030 g (0,05 mmole de porphyrine (c) déprotégée dans 3 ml de DMF, on ajoute 0,062 ml (0,047 mmole, 10 eq.) de 2,4,6 collidine puis 0,047 mmole (10 eq.) de sel de manganèse, $(\text{Mn CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, de fer ou de zinc.
- 5 Le mélange est porté au reflux pendant 3 heures puis on le laisse sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau puis, purifié sur une colonne sèche d'alumine neutre (éluant : dichlorométhane puis dichlorométhane/éthanol). A la métalloporphyrine ainsi obtenue dans 3 ml de DMF, on ajoute l'iodure de méthyle (10 eq) et on porte le mélange au reflux pendant 4 heures puis, on le laisse agiter à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange est ensuite évaporé
- 10 à sec puis repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate du titre. Le produit est ensuite purifié par précipitation dans un mélange méthanol/acétone. Rdt = 82 %. Sa formule développée ($\text{M} = \text{Mn}$, $\text{X} = \text{CH}_3\text{COO}$) est représentée sur le dessin annexé. On a obtenu de la même manière le dérivé de fer et de
- 15 zinc correspondant en remplaçant l'acétate de manganèse respectivement par $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (10 eq. chaque fois).

EXEMPLE 2 : Dérivés hydroxyphényliques de porphyrine.

20 i) 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine

- Un mélange de 3,19 g (0,026 mole; 1,75 eq) de hydroxy-4-phenylcarboxaldéhyde dans 205 ml d'acide propionique et 10 ml d'anhydride acétique est chauffé à 110°C sous agitation. A cette solution, on ajoute lentement 4,27 ml (0,045 mole; 3 eq) de pyridine-4-carboxaldéhyde, puis 4,13 ml (0,06 mole; 4 eq) de pyrrole et on porte le mélange au reflux pendant 1 h 30. Revenu à la température ambiante, le mélange est évaporé à sec
- 25 et neutralisé avec une solution aqueuse d'ammoniaque. Après filtration, le précipité est lavé plusieurs fois avec du dichlorométhane. La phase organique est ensuite concentrée puis purifiée sur une colonne de silice sèche (éluant: dichlorométhane/éthanol 95/5). Produit isolé = 0,52 g ; Rdt = 5,5 %; ccm: $R_f = 0,14$ (éluant: CH_2Cl_2 /éthanol, 95/5).

- UV-visible (CHCl_3 à $7,2 \times 10^{-6}$ M) λ (ε) 642 ($3,2 \times 10^3$) ; 587 ($7,9 \times 10^3$) ; 545 ($9,4 \times 10^3$) ; 511 ($2,8 \times 10^4$) ; 416
- 30 ($5,1 \times 10^5$) (bande de Soret).

- RMN¹H (CDCl_3 à 294 K) δ 9,04 (d, 6H, J = 5,2 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,95 (d, 2H, J = 4,8 Hz, β-pyrrole) ; 8,86 (m, 6H, β-pyrrole) ; 8,20 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,16 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,52 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,80 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2CH_3) ; 2,50 (m, 2H, OH) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH_3CH_2) ; -2,89 (s, 2H, NH pyrrole).

- 35 Analyse : dans les calculs, on a considéré également une molécule d'éthanol de solvation, $\text{C}_{41}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}$, EtOH.

- 40 Calculé % : C, 75,96 ; H, 4,97 ; N, 14,43.
Trouvé % : C, 76,08 ; H, 4,77 ; N, 13,09.

45 j) Cis-5,10-bis(4-hydroxy-phényl)-15,20-bis(4-pyridyl)-porphyrine

- Lors de la purification sur colonne de silice sèche du mélange réactionnel du paragraphe précédent nous obtenons également la cis-5,10-bis(4-hydroxy-phenyl)-15,20-bis(4-pyridyl)-porphyrine (éluant : CH_2Cl_2 /EtOH, 97,5/2,5) : produit isolé = 0,74 g ; Rdt = 7,7 % ; ccm : $R_f = 0,21$ (éluant : CH_2Cl_2 /EtOH, 95/5).

- UV-visible (dans CHCl_3 à $7,2 \times 10^{-6}$ M) λ (ε) 642 ($2,1 \times 10^3$) ; 586 ($4,4 \times 10^3$) ; 546 ($5,8 \times 10^3$) ; 512 ($1,5 \times 10^4$) ; 415 (3×10^5) (bande de Soret).

- 50 RMN¹H (CDCl_3) δ 9,03 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,94 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β-pyrrole) ; 8,91 (s, 2H, β-pyrrole) ; 8,84 (s, 2H, β-pyrrole) ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β-pyrrole) ; 8,20 (d, 4H, J = 8,5 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,17 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,51 (d, 4H, J = 8,5 Hz, Protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,80 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2CH_3) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH_3CH_2) ; -2,88 (s, 2H, NH pyrrole).

- 55 Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait 1,75 molécules d'éthanol de solvation, $\text{C}_{42}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_2$, 1,75 EtOH.

- 60 Calculé % : C, 74,95 ; H, 5,28 ; N, 11,53.
Trouvé % : C, 74,33 ; H, 4,99 ; N, 11,23.

k) 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris (4-hydroxy-phényl)-porphyrine

- De la même manière que précédemment, nous obtenons la 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tris (4-hydroxy-phényl)-porphyrine (éluant : dichlorométhane). Produit isolé = 0,62 g ; Rdt = 6,3 %; ccm : $R_f = 0,31$ (éluant :

CH₂Cl₂/EtOH 95/5).

UV-visible (dans CH₂Cl₂ à $1,2 \times 10^{-5}$ M) λ (ϵ) 642 ($2,6 \times 10^3$) ; 587 ($4,4 \times 10^3$) ; 548 ($5,5 \times 10^3$) ; 512 ($1,3 \times 10^4$) ; 416 ($3,3 \times 10^5$) (bande de Soret).

RMN¹H (CDCl₃) δ 9,02 (d, 2H, J = 5,9 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,91 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,89 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,79 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,20 (d, 6H, J = 8,4 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,16 (d, 2H, J = 5,9 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,51 (d, 6H, J = 8,4 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 2,79 (q, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂CH₃) ; 1,58 (m, 6H, OH) ; 1,42 (t, 3H, J = 7,5 Hz, CH₃CH₂) ; -2,86 (s, 2H, NH pyrrole).

Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait deux molécules d'éthanol de solvatation, C₄₃H₂₉N₅O₃.2EtOH.

Calculé % : C, 74,67 ; H, 5,47 ; N, 9,27.

Trouvé % : C, 74,49 ; H, 5,06 ; N, 8,45.

l) Acétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine de manganèse.

la réaction de métallation s'effectue selon le même mode opératoire décrit pour la porphyrine (g) de l'exemple 1.

Masse (FAB⁺) : m/e 687 (M⁺)

m) Triacétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine.

La méthylation de la porphyrine de l'exemple (i) par l'iodure de méthyle dans du DMF suivie d'une réaction d'échange d'ions iodure en acétate se fait selon la méthode décrite dans l'exemple (f). (Rdt = 88 %).

RMN¹H (CD₃COOD) δ 9,46 (m, 6H, protons 2,6-pyridine) ; 9,35 (m, 2H, β -pyrrole) ; 9,14 (m, 4H, β -pyrrole) ; 8,99 (m, 6H, protons 3,5-pyridine) ; 8,71 (m, 2H, β -pyrrole) ; 8,15 (d, 2H, J = 7,6 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 7,56 (d, 2H, J = 7,6 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 4,91 (s large, 9H, N-Me).

n) Tétracétate de 5-(4-hydroxyphényl)-10,15,20-tris (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

La métallation de la porphyrine (i) avec de l'acétate de manganèse suivie d'une réaction de méthylation par l'iodure de méthyle se font dans les mêmes conditions que pour l'exemple¹ (h) et après l'échange des contre-ions iodure en acétate sur une résine échangeuse d'ions, on obtient le produit attendu.

Produit isolé = 0,018 g ; Rdt = 76 %.

UV-visible (dans H₂O à $6,1 \times 10^{-6}$ M) λ (ϵ) 600 ($2,9 \times 10^3$) ; 560 ($6,6 \times 10^3$) ; 464 ($7,3 \times 10^4$) (bande de Soret).

EXEMPLE 3 : Dérivés amino-propyloxyphényliques de porphyrine.

o) 5-[4-(3-amino-propyloxy)-phényl]-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine.

A une solution de 0,051 g (0,8 mmole) de la porphyrine de l'exemple (i) dans 3 ml de DMF sont ajoutés à température ambiante 0,65 g (16,4 mmole ; 20,5 eq.) de soude pilée. La couleur de la solution passe de violet au vert et le mélange est agité pendant 15 minutes. 0,017 g (0,88 mmole ; 1,1 eq) de bromohydrate de bromo-3-propylamine sont ajoutés à cette solution et l'agitation est maintenue pendant 3 h. L'avancement de la réaction est suivie par ccm (plaque de silice ; éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 50/50). Au bout de ce temps, 0,017 g de bromohydrate de bromo-3-propylamine sont rajoutés et le mélange est encore agité pendant 2 h. On ajoute alors 2 ml de méthanol et 5 ml d'eau distillée au mélange réactionnel. La solution obtenue est extraite au dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau distillée (2 fois), séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne sèche d'alumine basique (éluant : méthanol/acide acétique 80/20) ; produit isolé = 0,095 g ; Rdt = 85 %

ccm : R_f = 0,29 (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 80/20 avec 1 % de NH₄OH).

UV-visible (dans MeOH à $1,33 \times 10^{-5}$ M) λ (ϵ) 642 ($1,6 \times 10^3$) ; 583 ($3,1 \times 10^3$) ; 544 ($3,8 \times 10^3$) ; 510 ($9,8 \times 10^3$) ; 412 ($1,8 \times 10^5$) (bande de Soret).

RMN¹H (MeOH-d₄ à 294 K) δ 8,98 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,97 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,25 (d, 6H, J = 5,5 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,18 (d, 2H, J = 8,5 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 7,47 (d, 2H, J = 8,5 Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 5,0 (m, 2H, NH₂) ; 4,53 (t, 2H, J = 5,6 Hz, OCH₂) ; 3,4 (m, 2H, CH₂N) ; 2,45 (quintuplet, 2H, J = 5,5 Hz, CH₂).

Masse (DCI/NH₃) : m/e = 692 (M⁺ + H) ; fragments : 634 (M⁺ - (CH₂)₃NH₂).

p) Cis-5,10-bis[4-(3-amino-propyloxy)-phényl]-15,20-bis(4-pyridyl)-porphyrine.

En poursuivant le même mode opératoire que celui décrit dans l'exemple (o) mais à partir de la porphyrine (j), nous obtenons la porphyrine dipyridyle porteuse de 2 bras en position cis.

Produit isolé = 0,066 g ; Rdt = 79 % ; ccm : R_f = 0 (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 80/20).

UV-visible (dans MeOH/CHCl₃, 95/5 à $9,2 \times 10^{-6}$ M) λ (ϵ) 644 ($2,2 \times 10^3$) ; 588 ($3,3 \times 10^3$) ; 548 ($4,9 \times 10^3$) ; 512 ($9,2 \times 10^3$) ; 414 ($1,8 \times 10^7$) (bande de Soret). RMN¹H (CDCl₃) δ 9,01 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,92 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,89 (s, 2H, β -pyrrole) ; 8,81 (s, 2H, β -pyrrole) ; 8,77 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,14 (d, 4H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,08 (d, 4H, J = 8,4 Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ;

7,27 (d, 4H, J = 8,4 Hz, protons 3,5-phenoxy-4) ; 4,32 (t, 4H, J = 5,9 Hz, OCH₂) ; 3,08 (t, 4H, J = 6,0 Hz, CH₂N) ; 2,32 (m, 4H, CH₂) ; -2,84 (s, 2H, NH pyrrole).

Masse (DCI) : m/e 765 (M⁺ + 2) ; fragments à 707 et 649.

- 5 Analyse : dans les calculs, on a considéré qu'il y avait 3 molécules d'éthanol de solvatation, C₄₈H₄₂N₈O₂, 2,5EtOH.

Calculé % : C, 72,48 ; H, 6,55 ; N, 12,76.

10 Trouvé % : C, 72,00 ; H, 6,67 ; N, 12,44.

q) *Tétraacétate de 5-[4-(N-triméthyl-3-aminopropoxy)phenyl]-10,15,20-tris (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine*

- 15 La méthylation de la porphyrine (i) par la méthode déjà décrite dans l'exemple (1f) suivie d'un échange des contre-ions iodure en acétate conduit au produit correspondant ; Rdt = 85% ;

UV-visible (dans H₂O à 4,4x10⁻⁶M) λ (ε) 640 (1,8 x 10³) ; 580 (6,4 x 10³) ; 556 (6,6 x 10³) ; 518 (1,3 x 10⁴) ; 422 (1,9 x 10⁵) (bande de Soret).

- 20 RMN ¹H(CD₃COOD) δ 9,48 (d, 6H, J = 5,8 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 9,17 (s large, 6H, β-pyrrole) ; 9,08 (d, 2H, J = 4,8 Hz, β-pyrrole) ; 9,00 (d, 6H, J = 5,8 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,27 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 2,6-phényl) ; 7,51 (d, 2H, J = 8,3 Hz, protons 3,5-phényl) ; 4,91 (s large, 9H, N-Me-4-pyridyl) ; 4,53 (m, 2H, OCH₂) ; 3,87 (m, 2H, NCH₂) ; 3,41 (s, 9H, -NMe₃) ; 2,63 (m, 2H, -CH₂-).

r) *Pentaacétate de cis-5,10-bis[4-N-triméthyl-3-aminopropoxy]phenyl]-15,20-bis (N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganese (III).*

- 25 En suivant le même mode opératoire que pour l'exemple (1h), nous obtenons à partir du composé (j) la porphyrine métallée avec le manganèse et méthylée sur les noyaux pyridiniques et portant deux bras 3-triméthyl aminopropoxy- en para des noyaux phényle.

Produit isolé = 0,015 g ; Rdt = 65 %.

UV-visible (dans H₂O à 9,3 x 10⁻⁶M) λ (ε) 600 (6,9 x 10³) ; 564 (1,1 x 10⁴) ; 467 (8,7 x 10⁴) (bande de Soret).

30

EXEMPLE 4 : Dérivés (amino-butyryl)aminophénylique de porphyrine.

s) *5-[4-(N-Boc-aminobutyryl)aminophenyl]-10,15,20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine.*

- 35 Afin de synthétiser ce dérivé, un amino-acide du type N-Boc-(CH₂)_n-COOH est à préparer selon la méthode décrite dans le paragraphe suivant, ici n = 3.

Acide N-Boc-4-aminobutyrique :

- 40 A une suspension de 0,4 g (0,004 mole) d'acide 4-amino-butyrique, de 0,155 g (0,004 mole, 1 eq.) d'oxyde de magnésium et de 4 ml de soude 1M dans un mélange dioxane/eau (6/1), sont ajoutés lentement 0,96 g (0,0044 mole, 1,1 eq.) de dicarbonate de di-tert-butyle. Le mélange est agité pendant 20 h à température ambiante. Après filtration, le résidu est lavé à l'eau. Le filtrat est concentré, puis on ajoute l'eau. Après un lavage à l'éther, la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH = 2,3 avec de l'acide acétique à 10 % puis extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec. L'huile orange obtenue est triturée avec l'hexane puis séchée sous vide à 60° C. Le produit obtenu est sous forme de solide blanc.

- 45 Produit isolé = 0,716 g ; Rdt = 90 %.

IR (pastille KBr) ν (cm⁻¹) 3343(NH et COOH) ; 1689 (large ; COOH et COOtBu).

Masse (DCI) : m/e = 204 (M⁺ + 1) ; 221 (M⁺ + 18).

RMN ¹H (CDCl₃) δ 11,34 (m, 1H, COOH) ; 3,14 (t dédoublé, 2H, J = 6,75 Hz, CH₂N) ; 2,36 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂CO) ; 1,79 (quintuplet, 2H, J = 6,8 Hz, -CH₂-) ; 1,41 (s, 9H, tBu).

- 50 A l'aide de ce dérivé, la porphyrine (s) peut se préparer de la façon suivante :

- A 0,063 g (0,31 mmole, 3,1 eq.) d'acide N-Boc-4-aminobutyrique dans 6 ml de dichlorométhane anhydre, maintenue dans un bain de glace, on ajoute 0,050 ml (0,36 mmole ; 4 eq.) de triéthylamine, puis 0,029 ml (0,3 mmole ; 3,3 eq.) de chloroformiate d'éthyle et on laisse le mélange agiter à 0° C pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 6 ml de dichlorométhane sec et refroidi dans un bain de glace. On

- 55 ajoute 0,050 ml (0,36 mmole) de triéthylamine, puis 0,066 g (0,1 mmole) de la porphyrine de l'exemple (1b). Le mélange est agité à 0° C pendant 1 h, puis 2 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé à sec et le résidu est lavé abondamment à l'eau distillée.

- le résidu est repris dans du dichlorométhane. Cette solution est lavée avec du bicarbonate de sodium à 5 % (2 fois), puis à l'eau distillée (3 fois). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec.

- 60 Le produit obtenu est presque pur, cependant, une purification sur une colonne sèche d'alumine permet l'obtention d'un produit très pur (éluant : CH₂Cl₂/EtOH, 99,5/0,5). Produit isolé = 0,066 g ; Rdt = 77 %.

Masse (FAB⁺) : m/e = 819 (M⁺ + 1) ; fragments : 763 (M-tBu) ; 719 (M-COOtBu) ; 633 (M-C(CH₂)₃NHCOOt-Bu).

- 65 UV-visible (dans CHCl₃ à 2,04 x 10⁻⁶M) λ (ε) 642 (2,9 x 10⁴) ; 586 (5,2 x 10⁴) ; 548 (6,8 x 10⁴) ; 512 (1,6 x 10⁵) ; 418 (1,6 x 10⁶) (bande de Soret).

IR (pastille KBr) ν (cm⁻¹) : 3319 (NH) ; 1689 (C=O) ; 1593 (Ar).

RMN ¹H (CDCl₃) δ 9,1 (s, 1H, protons 2,6-pyridine) ; 8,97 (d, 2H, J = 5,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,84 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,81 (d, 2H, J = 4,9 Hz, β -pyrrole) ; 8,16 (d, 6H, J = 5,9 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,08 (m, 4H, protons phényle) ; 4,27 (m, 2H, CH₂N) ; 2,57 (t, 2H, J = 6,5 Hz, CH₂C=O) ; 2,02 (m, 2H, -CH₂-) ; 1,53 (s, 9H, tBu) ; -2,90 (s, 2H, NH pyrrole).

t) *Acétate de 5-[4-N-Boc-aminobutryl]aminophenyl]-10,15,20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).*

La métallation de la porphyrine de l'exemple (s) avec de l'acétate de manganèse dans du DMF selon la méthode déjà décrite dans l'exemple (1g) permet d'obtenir la porphyrine de manganèse attendue.

Produit isolé : m = 0,024 g ; Rdt = 70 %.

UV-visible (dans CHCl₃ à 2,15 x 10⁻⁶) λ (ε) 613 (6,7 x 10⁴) ; 578 (7,4 x 10⁴) ; 475 (8,9 x 10⁵) (bande de Soret).

u) *5-[4-(aminobutryl)aminophenyl]-10,15,20-tris(4-pyridyl)-porphyrine*

Une solution de 0,027 g (0,03 mmole) de la porphyrine (s) dans 14 ml d'une solution à 25 % d'acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane est agitée pendant 1 h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Au résidu obtenu est ajouté un large excès d'éther anhydre et une forte agitation est maintenue jusqu'à formation d'un précipité abondant. Après filtration, le précipité est dissous dans l'eau, puis neutralisé avec du bicarbonate de sodium à 5 %. La phase aqueuse ainsi obtenue est extraite au dichlorométhane (3 fois). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium, puis évaporées à sec. Le produit est purifié par une précipitation à l'aide d'un mélange dichlorométhane/hexane.

Produit isolé = 0,020 g ; Rdt = 84 % ;

UV-visible (dans CHCl₃ à 3,62 x 10⁻⁶M) λ (ε) 645 (1,1 x 10⁴) ; 588 (1,7 x 10⁴) ; 548 (2,2 x 10⁴) ; 513 (3,3 x 10⁴) ; 419 (6,5 x 10⁵) (bande de Soret).

IR (lames CaF₂) ν (cm⁻¹) 3200 (NH large) ; 1629 (C=O large).

Masse (FAB⁺) : m/e 719 (M+1)⁺

RMN ¹H (CDCl₃) δ 9,03 (d, 6H, J = 5,1 Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,83 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,15 (d, 6H, J = 5,1 Hz, protons 3,5-pyridine) ; 7,97 (d, 2H, J = 8,1 Hz, protons 2,6-amino-4-phenyl) ; 7,08 (d, 2H, J = 8,1 Hz, protons 3,5-amino-4-phenyl) ; 3,24 (m, 2H, CH₂N) ; 2,03 (m, 4H, CH₂C=O et -CH₂) ; -2,90 (m, 2H, NH pyrrole).

v) *Pentaacétate de 5-[4-(triméthylaminobutryl)aminophényl]-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).*

La métallation de la porphyrine (u) avec de l'acétate de manganèse dans le DMF suivie d'une méthylation avec de l'iodure de méthyle dans le DMF (selon la méthode déjà décrite pour l'exemple (1h) conduit après l'échange de contre-ions iodure en acétate à la métalloporphyrine correspondante.

Produit isolé : 0,021 g ; Rdt = 87 % ;

UV visible (dans H₂O à 3,76 x 10⁻⁵M) λ (ε) 596 (1,3 x 10³) ; 560 (2,8 x 10³) ; 462 (2,8 x 10⁴) (bande de Soret).

Masse (FAB⁺) : m/e 844.

EXEMPLE 5 : Préparation d'une molécule hybride métalloporphyrine-intercalant.

a) Bromure de N²-(4-éthoxycarbonyl-butyl) -9-méthoxy-ellipticinium,

Un mélange de 9-méthoxy-ellipticine* (0,102 g ; 0,37 mmole) et de 5-bromo-valérate d'éthyle (0,058 ml ; 0,37 mmole ; 1 eq.) dans 2 ml de DMF anhydre est chauffé à 120°C sous agitation pendant 4 heures. L'agitation est maintenue pendant la nuit à température ambiante puis, on ajoute de l'éther au mélange. Après filtration, la poudre orange obtenue est lavée à l'éther puis séchée sous vide. Produit isolé = 0,156 g ; Rdt = 87%.

UV-visible (CHCl₃) λ (ε) : 406 (3,9 x 10³) ; 390 (4,15 x 10³) ; 348 (3,4 x 10³) ; 332 (6,5 x 10³)

RMN ¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 10,11 (s, 1H, H₁) ; 8,57 (d, 1H, J = 7,1 Hz, H₃) ; 8,43 (d, 1H, J = 7,1 Hz, H₄) ; 7,82 (d, 1H, J = 1,9 Hz, H₁₀) ; 7,62 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H₇) ; 7,33 (dd, 1H, J = 2,2 Hz, 8,7 Hz, H₈) ; 4,83 (t, 2H, J = 7,1 Hz, (CH₂)₁₂) ; 4,16 (q, 2H, J = 7,1 Hz, (CH₂)₁₇) ; 4,02 (s, 3H, CH₃O) ; 3,44 (s, 3H, (CH₃)₁₁) ; 2,84 (s, 3H, (CH₃)₅) ; 2,53 (t, 2H, J = 7,3 Hz, (CH₂)₁₅) ; 2,16 (m, 2H, (CH₂)₁₃) ; 1,73 (m, 2H, (CH₂)₁₄) ; 1,28 (t, 3H, J = 7,1 Hz, (CH₃)₁₈). Les atomes de carbone du bras ont été numérotés de 12 à 18 en partant de l'azote 2 de la 9-méthoxy-ellipticine (le méthyle de la partie ester ayant le numéro 18).

(* Ce composé et son activité ont été notamment décrits dans J. Le Men et coll., Rev. Europ. Etud. Clin. et Biol. 1970, XV, 534-538.)

b) chlorure de N²-(4-carboxybutyl)-9-méthoxy- ellipticinium

0,148 g (0,3 mmole) d'ester (a) dans 14 ml d'acide chlorhydrique 1N sont chauffés au reflux sous agitation pendant 3 heures. L'agitation est maintenue pendant toute la nuit à la température ambiante. Le mélange est ensuite évaporé à sec ; le résidu est repris dans du méthanol et on fait précipiter le produit par l'éther sous forme d'une poudre orange. Après filtration, le produit est séché sous vide. Produit isolé = 0,125 g ; Rdt = 99%. La présence d'ions chlorure a été vérifiée par un test avec le nitrate d'argent.

UV-visible (CHCl₃/MeOH) λ (ε) : 452 (1,29 x 10³) ; 386 (2,5 x 10³) ; 321 (1,8 x 10⁴)

Masse (DCI) = : M⁺ = 377 Déc. 210°C

RMN ¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 12,19 (1H, s, COOH) ; 10,22 (1H, s, H₁) ; 8,65 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H₃) ; 8,59 (d, 1H,

$J = 7,2 \text{ Hz, } H_4$); 8,05 (d, 1H, $J = 2,3 \text{ Hz, } H_{10}$); 7,73 (d, 1H, $J = 8,7 \text{ Hz, } H_7$); 7,44 (dd, 1H, $J = 8,7 \text{ Hz, } J = 2,3 \text{ Hz, } H_8$); 4,84 (t, 2H, $J = 7,0 \text{ Hz, } (CH_2)_{12}$); 4,06 (s, 3H, $CH_3 O$); 3,46 (s, 3H, $(CH_3)_{11}$); 3,43 (s, 1H, NH); 2,97 (s, 3H, $(CH_3)_5$); 2,45 (t, 2H, $J = 7,4 \text{ Hz, } (CH_2)_{15}$); 2,16 (m, 2H, $(CH_2)_{13}$); 1,70 (m, 2H, $(CH_2)_{14}$).

- Le chlorure obtenu est dissous dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate (4 eq.) à cette solution suivie d'une agitation de 3 heures à la température ambiante permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate correspondant. Le produit est ensuite purifié par précipitation dans un mélange méthanol/éther.

IR (lames NaCl) : $\gamma_{CO} = 1656 \text{ cm}^{-1}$

UV-visible (CH_3OH) λ (ε) : 385 ($5,7 \times 10^3$); 318 ($5,7 \times 10^4$).

- En suivant les mêmes procédés de synthèse, nous avons préparé les bromures de N²-(2-éthoxycarbonyl-éthyl)-9-méthoxy-ellipticinium et de N²-(5-éthoxycarbonyl-pentyl)-9-méthoxy-ellipticinium ainsi que leurs homologues porteurs d'une fonction acide:

c) Chlorure de N²-(2-carboxyéthyl)-9-méthoxy-ellipticinium

- Produit isolé : 0,096 g ; Rdt = 98 %.

UV-visible (dans MeOH à $2,2 \times 10^{-5} \text{ M}$) λ (ε) 410 ($5,3 \times 10^3$) ; 380 ($8,0 \times 10^3$) ; 305 ($6,2 \times 10^4$) ; 295 ($6,5 \times 10^4$) ; 274 ($5,9 \times 10^4$).

RMN ¹H (MeOH-d₄) δ 9,76 (s, 1H, H₁) ; 8,38 (d, 1H, $J = 7,0 \text{ Hz, } H_3$) ; 8,31 (d, 1H, $J = 7,0 \text{ Hz, } H_4$) ; 7,78 (d, 1H, $J = 2,0 \text{ Hz, } H_{10}$) ; 7,54 (d, 1H, $J = 8,8 \text{ Hz, } H_7$) ; 7,28 (d, 1H, $J = 8,8 \text{ Hz, } J = 2,0 \text{ Hz, } H_8$) ; 4,98 (m, 1H, $(CH_2)_{12}$) ; 4,02 (s, 3H, MeO) ; 3,25 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,84 (m, 2H, $(CH_2)_{13}$) ; 2,79 (s, 3H, Me₅).

d) Chlorure de N²-(5-carboxypentyl)-9-méthoxy-ellipticinium.

Produit isolé = 0,170 g ; Rdt = 99 %.

UV-visible (dans MeOH à $3,3 \times 10^{-5} \text{ M}$) λ (ε) 440 ($2,4 \times 10^3$) ; 382 ($6,1 \times 10^3$) ; 3,13 ($5,5 \times 10^4$).

- Masse (DCI) : M⁺ = 391.

RMN ¹H (DMSO-d₆ à 294 K) δ 2,24 (s, 1H, COOH) ; 10,20 (s, 1H, H₁) ; 8,62 (d, 1H, $J = 7,0 \text{ Hz, } H_3$) ; 8,56 (d, 1H, $J = 7,0 \text{ Hz, } H_4$) ; 8,02 (d, 1H, $J = 2,2 \text{ Hz, } H_{10}$) ; 7,72 (d, 1H, $J = 8,8 \text{ Hz, } H_7$) ; 7,42 (dd, 1H, $J = 8,8 \text{ Hz, } J = 2,2 \text{ Hz, } H_8$) ; 4,81 (t, 2H, $J = 7,2 \text{ Hz, } (CH_2)_{12}$) ; 4,05 (s, 3H, MeO) ; 3,44 (s, 3H, Me₁₁) ; 2,95 (s, 3H, Me₅) ; 2,36 (t, 2H, $J = 7,0 \text{ Hz, } (CH_2)_{16}$) ; 2,13 (m, 2H, $(CH_2)_{13}$) ; 1,70 (m, 2H, $(CH_2)_{15}$) ; 1,47 (m, 2H, $(CH_2)_{14}$).

e) chlorure de 5-[4-[5-(9-méthoxy N²-ellipticinium)-butyryl amino]-phényl]-10, 15, 20-tris-(4-pyridyl)porphyrine

- A 0,054 g (0,13 mmole; 5,4 eq.) de (b) dans 2 ml de dichlorométhane anhydre, on ajoute 0,023 ml (0,16 mmole; 6,7 eq.) de la triéthylamine puis 0,021 ml (0,22 mmole; 9,1 eq.) de chloroformiate d'éthyle et on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec puis repris dans 2 ml de dichlorométhane anhydre. On ajoute 0,023 ml (0,16 mmole) de la triéthylamine puis 0,015 g (0,024 mmole) de la porphyrine de l'exemple 1 b) et on porte le mélange au reflux pendant 4 heures. L'avancement de la réaction est suivi par CCM. On laisse ensuite le mélange revenir à la température ambiante puis, le solvant est évaporé à sec. Le résidu repris par le dichlorométhane est purifié sur plaque de silice (éluant : EtOH/CH₂Cl₂ 20/80) à l'abri de la lumière. Le produit est repris par du méthanol et de l'acide acétique. Le filtrat est évaporé à sec, lavé à l'eau distillée puis séché sous vide. Produit isolé = 0,011 g ; Rdt = 45%.

Masse (FD) : M⁺-H = 991.

UV-visible ($CH_3OH/AcOH$: 99/1) λ (ε) : 318 ($7,6 \times 10^4$) ; 414 ($5,2 \times 10^4$) ; 508 ($3,7 \times 10^3$).

- RMN ¹H (DMSO-d₆ à 303 K) δ : 10,32 (s, 1H, H₁) ; 9,16 (d, 6H, $J = 5,3 \text{ Hz, } p\text{-}2,6\text{-pyridine}$) ; 9,01 (m, 8H, β-pyrrole) ; 8,73 (m, 1H, H₃) ; 8,67 (m, 1H, H₄) ; 8,38 (d, 6H, $J = 5,3 \text{ Hz, } p\text{-}3,5\text{-pyridine}$) ; 8,21 (m, 4H, amino-4-phényl) ; 8,09 (s élargi, 1H, H₁₀) ; 7,76 (d, 1H, $J = 8,7 \text{ Hz, } H_7$) ; 7,44 (d élargi, 1H, $J = 8,7 \text{ Hz, } H_8$) ; 4,96 (m, 2H, $(CH_2)_{12}$) ; 4,10 (m, 1H, NH) ; 4,02 (s, 3H, CH₃O) ; 3,53 (s, 3H, Me₁₁) ; 3,01 (s, 3H, Me₅) ; 2,34 (m, 2H, $(CH_2)_{15}$) ; 2,10 (m, 4H, $(CH_2)_{13}$ et 14) ; -2,90 (s, 2H, NH pyrrole).

f) tétraacétate de

- 5-[4-[5-(9-méthoxy-N²-ellipticinium)-butyrylamino]phényl]-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)porphyrine

Le résidu de l'étape (e) précédente est repris dans 3 ml de DMF sec, 0,021 ml (0,34 mmole, 10 eq.) d'iodure de méthyle est ajouté puis, on porte le mélange au reflux pendant 3 heures. On laisse le mélange sous agitation à la température ambiante pendant 15 heures. Le solvant est ensuite évaporé à sec et le résidu est lavé à l'eau plusieurs fois. Après filtration, le précipité est trituré avec l'acétone puis filtré et séché sous vide.

- Produit isolé = 0,041 g ; Rdt = 76%.

UV-visible (MeOH) λ (ε) : 655 ($2,19 \times 10^3$) ; 592 ($3,4 \times 10^3$) ; 555 ($5,0 \times 10^3$) ; 519 ($8,4 \times 10^3$) ; 425 ($1,00 \times 10^5$, bande de Soret) ; 318 ($5,9 \cdot 10^4$).

L'échange d'ions iodure en acétate s'effectue avec de bons rendements à partir d'une solution méthanolique de ce produit ajoutée à la résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78 sous forme acétate. Après 2-3 heures d'agitation à la température ambiante, le mélange est filtré et le solvant évaporé à sec. Le résidu est trituré avec de l'acétone, filtré et séché sous vide (Rdt = 80%).

UV-visible (MeOH) λ (ε) : 652 ($1,7 \times 10^3$) ; 590 ($1,5 \times 10^3$) ; 545 ($2,3 \times 10^3$) ; 512 ($5,3 \times 10^3$) ; 415 ($7,7 \times 10^4$, bande de Soret) ; 318 ($2,7 \times 10^4$).

Masse (FAB⁺ dans HCl) : 1091.

- RMN ¹H (DMSO-d₆ à 296 K) δ : 10,32 (s, 1H, H₁) ; 9,16 (d, 6H, $J = 5,1 \text{ Hz, } p\text{-}2,6\text{-pyridine}$) ; 9,00 (m, 8H, β-pyrrole) ;

8,73 (m, 1H, H₃); 8,61 (s, 1H, H₄); 8,37 (d, 6H, J = 5,1 Hz, p-3,5-pyridine); 8,24 (s, 1H, amino-4-phényl); 8,03 (s, 1H, H₁₀); 7,73 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₇); 7,42 (dd, 1H, J = 8,70 Hz, J = 2,4 Hz, H₈); 3,98 (m, 2H, (CH₂)₁₂); 4,01 (s, 3H, OCH₃); 3,70 (s, 3H, Me₁₁); 3,48 (s, 9H, CH₃); 2,98 (s, 3H, Me₅); 2,33 (m, 2H, (CH₂)₁₅); 2,13 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 14); 2,03 (s, 3H, CH₃COO⁻); -2,91 (s, 2H, NH pyrrole).

Cette molécule peut être métallée de la même manière que la porphyrine correspondante selon l'exemple 1 g). On préfère toutefois utiliser la méthode suivante combinant les étapes e) et f) du présent exemple.

g) méthode générale de synthèse de métalloporphyrines hydrosolubles liées à une molécule d'intercalant consistant en la 9-méthoxy-ellipticine.

A 0,070 g (0,17 mmole, 4,8 eq.) de (b) dans 3 ml de dichlorométhane anhydre (ceci est également applicable à (c) et (d)), on ajoute 0,037 ml (0,26 mmole; 7,6 eq.) de triéthylamine, puis 0,035 ml (0,37 mmole; 10,6 eq.) de chloroformate d'éthyle et on laisse le mélange agiter à la température ambiante pendant 30 mn. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 3 ml de dichlorométhane sec. On ajoute 0,037 ml (0,26 mmole) de triéthylamine, puis 0,022 g (0,35 mmole) de la porphyrine de l'exemple 1 b) et on porte le mélange au reflux pendant 4h. Le mélange est ensuite évaporé à sec, puis repris dans 3 ml de DMF anhydre. 0,050 ml (0,38 mmole, 11 eq.) de 2,4,6-collidine, puis 0,39 mmole (11 eq.) de sel de manganèse, de fer ou de zinc (Mn(CH₃COO)₂·4H₂O; FeCl₂·4H₂O; Zn(CH₃COO)₂·2H₂O) sont ajoutés à la solution. Le mélange est chauffé à 140°C pendant 3h, puis on le laisse agiter à la température ambiante pendant 15h. Le solvant est ensuite évaporé à sec. Le résidu est lavé à l'eau distillée, puis purifié sur une colonne sèche d'alumine neutre (éluant : CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/MeOH).

La métalloporphyrine ainsi obtenue est reprise dans 3 ml de DMF anhydre. L'iodure de méthyle (10 eq.) est ajouté à la solution. On porte le mélange au reflux pendant 3h, puis on le laisse agiter pendant 15 h à la température ambiante. Le solvant est évaporé à sec et le résidu repris dans du méthanol. L'addition de résine essorée d'échangeurs d'ions de type Amberlite IRN 78, sous forme acétate (4 eq.) à cette solution, suivie d'une agitation de 3h à la température ambiante, permet, après filtration puis évaporation du solvant, d'obtenir l'acétate correspondant. Le résidu est ensuite lavé au dichlorométhane, puis recristallisé dans un mélange méthanol/acétone. Les rendements et les données physico-chimiques des différentes molécules hybrides sont décrits ci-après.

Les rendements et les données physico-chimiques des différentes molécules hybrides sont décrits ci-après.

Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple (1b) et l'ellipticinium de l'exemple (5b) (longueur du bras reliant les deux entités est de 7 chaînons) Rdt = 60-80%.

UV-visible (H₂O) λ (ε) pour les trois composés hybrides métallés, respectivement les dérivés :

(Mn) : 565 (4,8 x 10³); 465 (3,7 x 10⁴), bande de Soret; 316 (4,7. 10⁴).

(Fe) : 430 (2,7 x 10⁴, bande de Soret; 315 (2,4 x 10⁴).

(Zn) : 615 (5,01 x 10³); 570 (9,9. 10³); 442 (9,5. 10⁴), bande de Soret; 3,15 (6,1 x 10⁴).

Masse (FAB⁺) : pour (Mn) : 1182 et pour (Fe) : 1183. Les métalloporphyrines Mn et Fe étant paramagnétiques, nous ne pouvons décrire que le spectre RMN ¹H du composé (Zn) :

RMN ¹H (DMSO d₆ à 303 K) δ : 10,24 (s, 1H, H₁); 9,54 (d, 6H, J = 5,2 Hz, p-2,6-pyridine); 9,10 (s, 4H, amino-4-phényl); 9,00 (m, 8H, β-pyrrole); 8,62 (m, 2H, H₃ et H₄); 8,20 (m, 6H, p-3,5-pyridine); 8,09 (s élargi, 1H, H₁₀); 7,77 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₇); 7,45 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H₈); 5,02 (m, 2H, (CH₂)₁₂); 4,83 (s large, 9H, N-Me); 4,04 (s, 3H, OCH₃); 3,55 (s, 3H, Me₁₁); 3,03 (s, 3H, Me₅); 2,34 (m, 2H, (CH₂)₁₅); 2,12 (m, 4H, (CH₂)₁₃₋₁₄); 2,02 (s, 3H, CH₃COO⁻).

* Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple (1b) et l'ellipticinium de l'exemple (5d) (longueur du bras reliant les deux entités est de 8 chaînons).

Pentaacétate de 5-[4-[6-(9-méthoxy-N²-ellipticinium)-pentanoyl]amino-phényl]-10,15,20-tris-(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

Rdt = 79 %

UV-visible (H₂O à 1,86x10⁻⁵M) λ (ε) 600 (4,3x10³); 564 (7,4x10³); 464 (1,6x10⁴) (bande de Soret); 314 (5,6x10⁴).

Tétraacétate de 5-[4-[6-(9-méthoxy-N²-ellipticinium)-pentanoyl]amino-phényl]-10,15,20-tris-(4-pyridyl)-porphyrine de zinc (II).

Rdt = 79 %

UV-visible (dans MeOH à 3,0 x 10⁻⁶M) λ (ε) 594 (5,3 x 10³); 554 (1,6 x 10⁴); 420 (4,22 x 10⁵) (bande de Soret); 314 (6,3x10⁴).

La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé non quaternarisé sur les pyridinium est décrit:

RMN ¹H (DMSO-d₆ à 330 K) δ 10,30 (s, 1H, H₁); 9,12 (d, 6H, J = 5,00 Hz, protons 2,6-pyridine); 8,94 (m, 8H, β-pyrrole); 8,72 (d, 1H, J = 7,10 Hz, H₃); 8,62 (d, 1H, J = 6,85 Hz, H₄); 8,32 (d, 6H, J = 5,0 Hz, protons 3,5-pyridine); 8,17 (m, 4H, protons amino-4-phenyl); 8,07 (d, 1H, J = 2,10 Hz, H₁₀); 7,70 (d, 1H, J = 8,70 Hz, H₇); 7,39 (d, 1H, J = 8,70 Hz; J = 2,20 Hz, H₈); 4,93 (m, 2H, (CH₂)₁₂); 3,98 (s, 3H, MeO); 3,52 (s, 3H, Me₁₁); 2,97 (s, 3H, Me₅); 2,29 (m, 2H, (CH₂)₁₆); 1,95 (m, 4H, (CH₂)₁₃ et 15); 1,65 (m, 2H, (CH₂)₁₄).

* Molécules hybrides "intercalant-métalloporphyrine" résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple 3(o) et l'ellipticinium de l'exemple (5b) (longueur du bras reliant les deux entités est de 11 chaînons).

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl) correspondante:

Rdt = 65 %.

UV-visible (H_2O à $1,1 \times 10^{-5} M$) λ (ϵ) 596 ($1,9 \times 10^3$) ; 564 ($3,6 \times 10^3$) ; 464 ($3,5 \times 10^4$) (bande de Soret) ; 314 ($2,3 \times 10^4$).

- La métalloporphyrine de zinc (4-pyridyl) correspondante (la résolution en RMN étant meilleure, le dérivé non quaternarisé sur les pyridinium est décrit):

$Zn(PP)(py)_3$: - $Ph-O-CH_2^{19}-CH_2^{18}-CH_2^{17}-NH(CO)-CH_2^{15}-CH_2^{14}-CH_2^{13}-CH_2^{12}-N^+-Ellip$

Rdt = 60 %

UV-visible (dans $MeOH$ à $1,6 \times 10^{-6} M$) λ (ϵ) 596 ($6,3 \times 10^3$) ; 554 ($2,2 \times 10^4$) ; 420 (5×10^5) (bande de Soret) ; 314 ($7,5 \times 10^4$).

Masse (FAB^+) : m/e 1114 (M^+).

RMN 1H ($DMSO-d_6$ à 303 K) δ 10,26 (s, 1H, H_1) ; 9,11 (d, 6H, $J = 4,65$ Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,93 (m, 8H, β -pyrrole) ; 8,66 (d, 1H, $J = 6,75$ Hz, H_3) ; 8,58 (d, 1H, $J = 6,75$ Hz, H_4) ; 8,32 (d, 6H, $J = 4,65$ Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,15 (d, 2H, $J = 8,45$ Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 8,01 (s élargi, 1H, H_{10}) ; 7,65 (d, 1H, $J = 8,60$ Hz, H_7) ; 7,43 (d, 2H, $J = 8,45$ Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 7,35 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, H_8) ; 4,88 (m, 2H, $(CH_2)_{12}$) ; 4,39 (m, 2H, $(CH_2)_{19}$) ; 4,00 (s, 3H, MeO) ; 3,45 (s, 3H, Me_{11}) ; 2,91 (s, 3H, Me_5) ; 2,39 (m, 2H, $(CH_2)_{15}$) ; 2,17 (m, 4H, $(CH_2)_{13}$ et 18) ; 1,76 (m, 4H, $(CH_2)_{14}$ et 17).

* Molécules hybrides résultant du couplage entre la porphyrine de l'exemple 4(u) et l'ellipticinum (5b) (longueur du bras reliant les deux entités est de 12 chaînons):

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl) correspondante:

Rdt = 47 %.

UV-visible ($MeOH$ à $1,1 \times 10^{-5} M$) λ (ϵ) 598 ($3,6 \times 10^3$) ; 556 ($1,3 \times 10^4$) ; 421 ($2,8 \times 10^5$) ; 315 ($5,7 \times 10^4$).

La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé zinc non quaternarisé sur les pyridinium est décrit :

$Zn(PP)(py)_3$:

- $O-NH(CO)-CH_2^{19}-CH_2^{18}-CH_2^{17}-NH(CO)-CH_2^{15}-CH_2^{14}-CH_2^{13}-CH_2^{12}-N^+-Ellip$

RMN 1H ($DMSO-d_6$ à 303 K) δ 10,21 (s, 1H, H_1) ; 9,10 (d, 6H, $J = 5,60$ Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,98 (d, 2H, $J = 4,7$ Hz, β -pyrrole) ; 8,93 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,89 (d, 2H, $J = 4,7$ Hz, β -pyrrole) ; 8,63 (d, 1H, $J = 7,10$ Hz, H_3) ; 8,52 (d, 1H, $J = 7,10$ Hz, H_4) ; 8,31 (d, 6H, $J = 5,60$ Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,19 (s élargi, 4H, protons amino-4-phenyl) ; 7,96 (d, 1H, $J = 2,10$ Hz, H_{10}) ; 7,68 (d, 1H, $J = 8,78$ Hz, H_7) ; 8,38 (d, 1H, $J = 8,78$ Hz, $J = 2,2$ Hz, H_8) ; 4,87 (t, 2H, $J = 6,80$ Hz, $(CH_2)_{12}$) ; 3,99 (s, 3H, MeO) ; 3,39 (s, 3H, Me_{11}) ; 2,90 (s, 3H, Me_5) ; 2,39 (t, 2H, $J = 6,90$ Hz, $(CH_2)_{19}$) ; 2,18 (m, 4H, $(CH_2)_{13}$ et 18) ; 1,99 (t, 2H, $J = 6,90$ Hz, $(CH_2)_{15}$) ; 1,76 (m, 4H, $(CH_2)_{14}$ et 17).

* Molécules hybrides résultant du couplage entre la métalloporphyrine de l'exemple 3(o) et de l'ellipticinum de l'exemple (5d) (longueur du bras reliant les deux entités est de 12 chaînons):

- La métalloporphyrine de manganèse (III) (N-méthyl-4-pyridyl):

Rdt. = 44 %

UV-visible (H_2O à $5,3 \times 10^{-6} M$) λ (ϵ) 620 ($5,2 \times 10^3$) ; 674 ($8,5 \times 10^3$) ; 466 ($7,4 \times 10^4$) (bande de Soret) ; 315 ($7,5 \times 10^4$).

- La métalloporphyrine de zinc (4-pyridyl):

Rdt. = 41 %

UV-visible ($MeOH$ à $8,7 \times 10^{-6} M$) λ (ϵ) 600 ($3,7 \times 10^3$) ; 558 ($1,2 \times 10^4$) ; 422 ($2,4 \times 10^5$) ; 316 ($7,6 \times 10^4$).

La résolution en RMN étant meilleure, le dérivé zinc non quaternarisé sur les pyridinium est décrit :

$Zn(PP)(py)_3$:

- $Ph-O-CH_2^{20}-CH_2^{19}-CH_2^{18}-NH(CO)-CH_2^{16}-CH_2^{15}-CH_2^{14}-CH_2^{13}-CH_2^{12}-N^+-Ellip$.

RMN 1H ($DMSO-d_6$ à 303 K) δ 10,09 (s élargi, 1H, H_1) ; 9,10 (d, 6H, $J = 4,30$ Hz, protons 2,6-pyridine) ; 8,97 (d, 2H, $J = 4,70$ Hz, β -pyrrole) ; 8,91 (s, 4H, β -pyrrole) ; 8,89 (d, 2H, $J = 4,70$ Hz, β -pyrrole) ; 8,56 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, H_3) ; 8,43 (d, 1H, $J = 6,10$ Hz, H_4) ; 8,31 (d, 6H, $J = 4,30$ Hz, protons 3,5-pyridine) ; 8,19 (d, 2H, $J = 8,40$ Hz, protons 2,6-phénoxy-4) ; 7,89 (s élargi, 1H, H_{10}) ; 7,67 (d, 1H, $J = 8,50$ Hz, H_7) ; 7,42 (d, 2H, $J = 8,40$ Hz, protons 3,5-phénoxy-4) ; 7,37 (d, 1H, $J = 8,50$ Hz, H_8) ; 4,79 (m, 2H, $(CH_2)_{12}$) ; 4,34 (m, 2H, $(CH_2)_{20}$) ; 3,98 (s, 3H, MeO) ; 3,27 (s, 3H, Me_{11}) ; 3,01 (s, 3H, Me_5) ; 2,31 (t, 2H, $J = 6,60$ Hz, $(CH_2)_{16}$) ; 2,13 (m, 4H, $(CH_2)_{13}$ et 19) ; 1,78 (m, 4H, $(CH_2)_{15}$ et 18) ; 1,50 (m, 2H, $(CH_2)_{14}$).

Pour chacun de ces composés on n'observe aucun point de fusion en-dessous de $240^\circ C$.

Activités biologiques des métalloporphyrines hydrosolubles selon l'invention.

L'activité cytotoxique a été déterminée sur des cellules leucémiques murines de type L1210 selon une méthode déjà décrite (par. C. Paoletti, S. Cros et coll., Chem. Bio. Interact., 25, 45 (1979). L'effet sur la croissance cellulaire est exprimé en termes de dose inhibant 50% de la croissance cellulaire (DI_{50}). Seules les valeurs des DI_{50} inférieures à 2 μM peuvent être considérées comme significatives sur le plan biologique.

Les résultats de cytotoxicité sont rassemblés dans le tableau 1. Seuls les composés porphyriniques ayant un métal central susceptible d'atteindre de hauts degrés d'oxydation ou capables de conduire à des espèces métal-oxo en présence d'oxygène ou de dérivés réduits de l'oxygène présentent une cytotoxicité appréciable : c'est le cas des complexes du manganèse. Les composés métallés avec le zinc n'ont pas de toxicité significative (tableau 1). Le composé métallé avec le fer, possède une toxicité plus faible que le composé analogue avec le manganèse.

Les produits les plus intéressants de cette série sont les dérivés hydrosolubles du manganèse décrits dans les exemples, avec un, deux ou trois groupes pyridinium et un, deux ou trois groupes phényle portant une fonction amine ou alcool, permettant ainsi d'accrocher par l'intermédiaire d'un bras cette molécule à une autre entité ("vecteur") présentant une affinité pour les acides nucléiques. Ces dérivés métalloporphyriniques

peuvent conduire à la synthèse de molécules hybrides cytotoxiques à un vecteur (in tercalant, oligonucléotides, oligopeptides, protéines ou fragments de protéines) adaptés à la cible biologique (cellules tumorales, virus ...). Nous avons décrit de tels exemples (intercalants) dans l'exemple 5.

Par ailleurs, ces molécules cytotoxiques présentent une activité nucléase sur de l'ADN in vitro. Cette activité a été mise en évidence en étudiant les coupures sur la forme superenroulée (forme I) - de l'ADN de bactériophase ϕ X 174 (voir tableau 2).

L'efficacité de coupure avec le composé (1h), possédant trois groupes pyridinium est très nette. En effet il ne reste que 13% de la forme I au bout de 2 mn en présence de 250 nM de métalloporphyrine et 5 μ M d'hydrogénopersulfate de potassium, KHSO_5 . Il s'agit là de coupures simples brins, puisque la forme II (ADN duplex circulaire avec une coupure) s'accumule avant de conduire à la forme III (ADN duplex linéaire). Les conditions expérimentales et les détails de la méthode d'analyse sont indiqués dans la référence Fouquet et coll. (cf. page 1).

Activités biologiques des molécules hybrides.

Nous avons choisi comme molécule hybride une métalloporphyrine (I) reliée à un intercalant de la série pyrido-carbazole comme vecteur, à savoir la 9-méthoxy-ellipticine.

La molécule hybride la plus cytotoxique est celle où le métal central est le manganèse (DI_{50} du composé (5f) = 0,58 μ M, voir tableau 1). Le composé analogue avec le fer reste toujours cytotoxique (DI_{50} = 3,2 μ M), par contre la toxicité devient beaucoup plus faible lorsque le métal est le zinc. Ceci confirme que le métal de la partie porphyrinique joue un rôle essentiel dans l'expression de la toxicité de ces molécules hybrides. Ce même effet du métal central a été observé pour les métalloporphyrines sans vecteur.

Il faut noter que la molécule de l'exemple 5 présente toujours une activité nucléase importante, bien que plus faible que l'exemple 1(h). La quasi-complète transformation de la forme I en forme II est obtenue à une concentration de 4 μ M en composé (5f).

Les molécules hybrides selon l'invention peuvent être considérées comme les premiers modèles biologiquement actifs de la bléomycine, médicament antitumoral agissant par dégradation oxydante de l'ADN en présence de sels métalliques (Sausville et coll., Biochemistry, 17, 2740 (1978)).

En conclusion, les métalloporphyrines hydrosolubles et portant une fonction pour l'accrochage de vecteurs selon l'invention présentent à la fois une activité cytotoxique sur des cellules tumorales et une capacité à couper les acides nucléiques in vitro.

Ces deux activités biologiques sont conservées lorsque ces mêmes métalloporphyrines sont reliées par l'intermédiaire d'un bras à un vecteur capable de moduler l'affinité ou l'interaction de ces molécules cytotoxiques vis-à-vis des acides nucléiques (les vecteurs peuvent être des intercalants, cas décrits ci-dessus, des oligonucléotides, oligo- ou polypeptides, ou des polyamines...).

Il s'agit là d'une nouvelle série originale de molécules cytotoxiques ayant pour cible les acides nucléiques. La large gamme des vecteurs qui leur sont associables permet d'envisager une activité cytotoxique sur des cellules de type très différent : cellules tumorales, virus ...

Les composés de l'invention sont donc utilisables en thérapeutique, notamment comme antitumoraux, antileucémiques et antiviraux. L'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques contenant ces composés ainsi qu'un véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

Tableau 1

Effets in vitro sur des cellules L1210 de quelques composés selon l'invention

Composé de l'exemple	DI_{50} (μ M)
1 h) (Mn)	0,54
1 h) (Fe)	2,1
1 h) (Zn)	10,9
2 n) (Mn)	0,68
5 b)	> 23
5 f) (Mn)	0,58
5 g) (Mn)	0,84
5 f) (Fe)	3,2
5 f) (Zn)	> 7,5

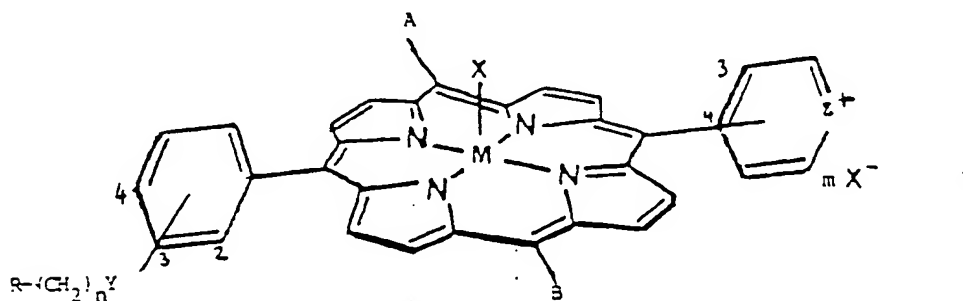
Tableau 2

Observation par électrophorèse sur gel d'agarose des effets endonucléases

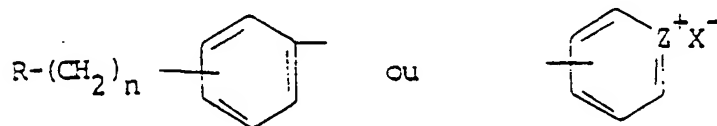
Composé	Conditions			
	1 μ M en métalloprophyrine 5 μ M en KHSO ₅ temps de pré-incubation (ADN + métalloprophyrine) : a) 20 mn, b) 1 mn temps d'incubation (avec oxydant) : 2mn			
Produit	Formes	I	II	III
(ADN témoin)		850/o	150/o	-
1 h)(Mn) (250 nM) ^a		130/o	780/o	90/o
1 h)(Mn) (250 nM) ^b		630/o	370/o	-
1 h)(Fe) (250 nM) ^b		750/o	250/o	-
1 h)(Zn) (250 nM) ^b		850/o	150/o	-
1 h)(Mn) (1 μ M) ^a		-	590/o	410/o
5 f)(Mn) (1 μ M) ^a		320/o	650/o	30/o
5 f)(Mn) (4 μ M) ^a		-	710/o	100/o
5 f)(Fe) (4 μ M) ^a		580/o	310/o	-

Revendications

1. Dérivés de métalloprophyrines selon l'invention répondant à la formule générale



dans laquelle A et B représentent chacun



et Z⁺ représente N⁺-R₁ ou C-N⁺R₁R₂R₃, R₁ étant un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, et R₂ et R₃ étant chacun un atome d'hydrogène ou un groupe aliphatique droit ou ramifié en C₁ à C₁₀, R représente un groupe NH₂, OH, COOH ou -N(R₁)₃, ou un atome d'halogène, n est 0 ou un entier de 1 à 10, le groupe alkylène correspondant pouvant être droit ou ramifié, M représente un métal de transition, X⁻ représente l'anion d'un acide carboxylique pharmaceutiquement acceptable, m étant un entier de 1 à 5, et Y représente une liaison ou un radical -O-, -CO- ou -CONH-.

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que R₁ représente un groupe méthyle ou éthyle.3. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que R₂ et R₃ représentent chacun un atome d'hydrogène.

4. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce que M représente Mn ou Fe.

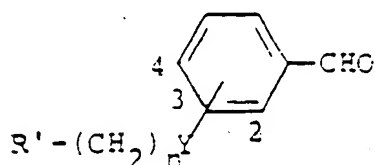
5. Composés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisés en ce que Z représente le groupe N⁺R₁.

6. Le Pentaacétate de 5-(4-aminophényl)-10,15,20-tris(N-méthyl-4-pyridyl)-porphyrine de manganèse (III).

7. Procédé de préparation des composés (I) selon la revendication 1, caractérisé par les étapes

suivantes :

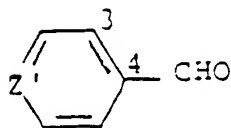
(a) condensation d'un phényl-carboxaldéhyde de formul



II

5

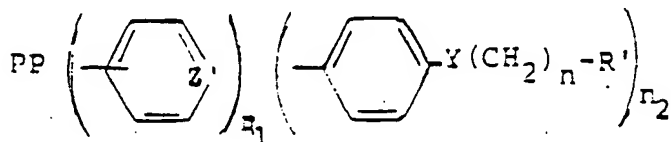
dans laquelle n et Y ont la même signification que dans la formule I et R' le groupe R éventuellement protégé de la formule I, et d'un aldéhyde de formule



III

15

dans laquelle Z' représente N ou $\geq C-NR_2R_3$, R_2 et R_3 ayant la même signification que dans la formule I, avec le pyrrole en milieu acide, de façon à obtenir une porphyrine (PP) tétrasubstituée en positions 5,10,15,20 de formule générale



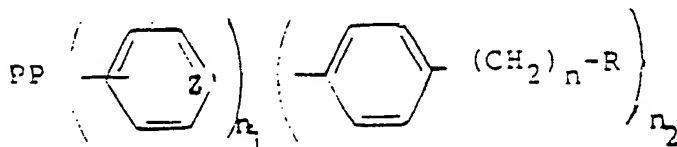
IV

25

dans laquelle R', n, Y et Z' ont les mêmes significations que dans les formules II et III respectivement, et n_1 et n_2 sont des entiers de 1 à 3 avec $n_1 + n_2 = 4$.

30

b) le cas échéant le composé IV est soumis à une déprotection du radical R' pour obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5,10,15,20 de formule générale



V

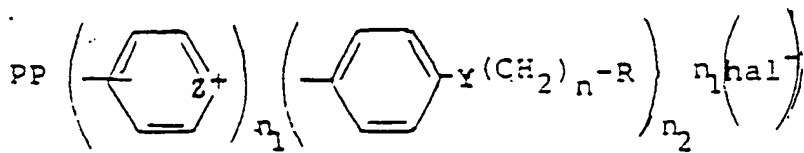
35

dans laquelle Z' a la même signification que dans la formule III, PP, n_1 et n_2 sont comme dans la formule IV et n, Y et R ont la même signification que dans la formule I,

40

c) le composé de formule V, après protection éventuelle de la fonction R, est soumis à une réaction d'alkylation à l'aide d'un halogénure $R_1\text{-hal}$, R_1 ayant la même signification que dans la formule I et hal désignant le brome ou d'iode, de manière à obtenir une porphyrine tétrasubstituée en 5,10,15,10 de formule générale

45



VI

50

et

d) ce composé est métallée à l'aide d'un sel MX_p , M et X ayant la même signification que dans la formule I et p correspondant à la valence du métal M.

55

8. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que les étapes c) et d) sont inversées.

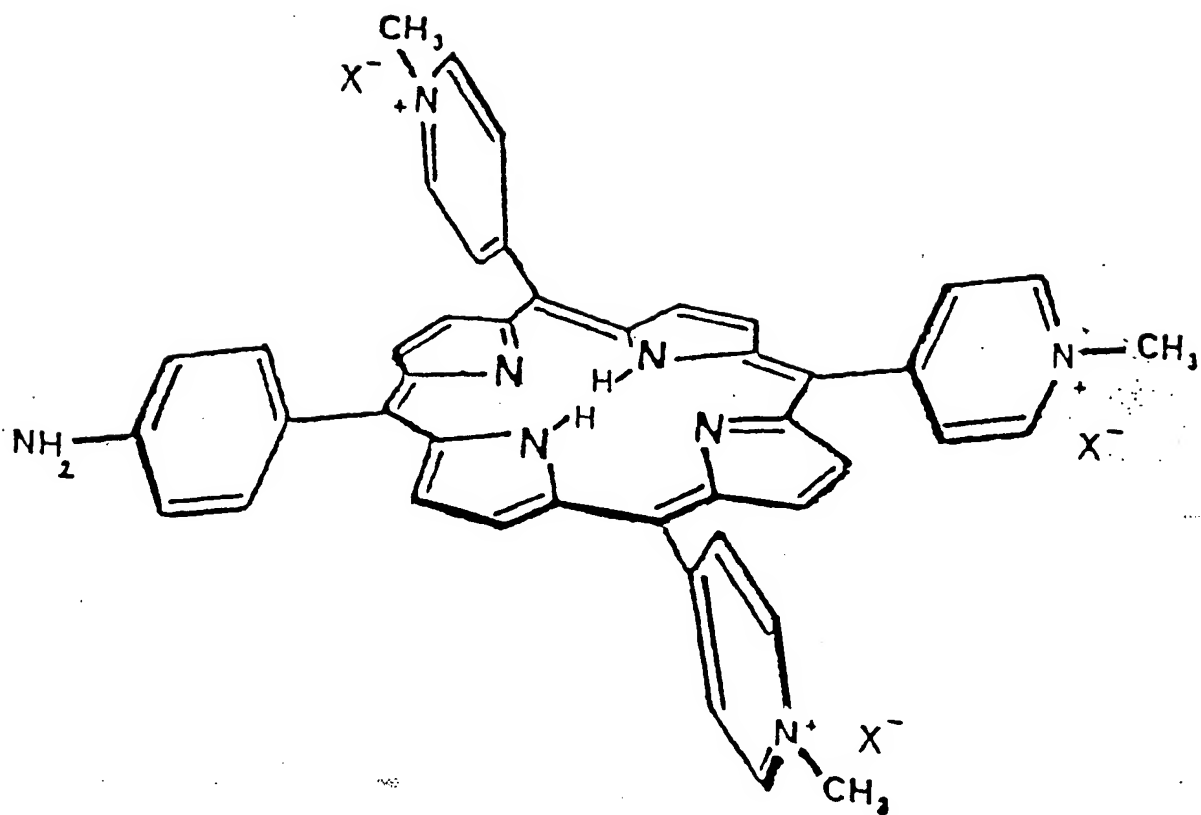
9. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle contient un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, et un véhicule ou excipient pharmaceutiquement acceptable.

10. Utilisation des composés selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, pour la préparation de molécules hybrides à usage thérapeutique.

60

11. Utilisation selon la revendication 9, caractérisée en ce que la molécule hybride est obtenue avec la 9-méthoxy-ellipticine.

65





DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
A	EP-A-0 186 962 (EFAMOL) * Revendication 1 * ---	1,9	C 07 D 487/22 A 61 K 31/40 //
D,A	EP-A-0 118 913 (SHUDO) * Revendication 1; page 1, lignes 11-17 *	1,9	(C 07 D 487/22 C 07 D 257:00 C 07 D 209:00 C 07 D 209:00 C 07 D 209:00 C 07 D 209:00)
A	US-A-4 386 087 (CITY UNIVERSITY, NEW YORK) * Revendication * -----	1,9	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4)
			C 07 D 487/00 A 61 K 31/00
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 29-08-1989	Examineur DE JONG B.S.
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arriére-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

THIS PAGE BLANK (USPTO)